

自动化样品前处理平台结合 GCMS 同时测定植物油中脂肪酸及反式脂肪酸含量

GCMS-642

摘要： 本文使用岛津 AOC-6000 自动化样品前处理平台结合 GCMS-QP2050 气质联用仪，建立了同时测定植物油中脂肪酸及反式脂肪酸含量的定量分析方法。利用自动化样品前处理平台，植物油仅需称量后即可自动完成皂化、甲酯化等前处理过程，并直接上 GCMS 分析，采用外标法进行定量。分析结果表明：37 种脂肪酸及 6 种反式脂肪酸在 1~50 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内，其相关系数 R 均大于 0.999；同时按照 3 倍信噪比（峰到峰计算方式）计算其仪器检出限在 0.001~0.223 $\mu\text{g/mL}$ ；10 $\mu\text{g/mL}$ 浓度标样重复进样 5 次，其峰面积的 RSD% 小于 6%；选用有证植物油质控标物进行了脂肪酸准确度及精密度验证实验，结果满足标准要求；同时对前处理进行了重复性实验（ $n=6$ ），测定结果的相对标准偏差（RSD%）小于 5.96%。结果表明该方法操作简单、稳定性好，准确度高，适用于植物油及食品中脂肪酸含量的自动化分析。

关键词： 自动化样品前处理平台 气相色谱质谱联用仪 植物油 脂肪酸 反式脂肪酸

技术特点：

- ❖ 利用 AOC-6000 自动化样品前处理平台，可自动实现：皂化、甲酯化等前处理过程，样品无需处理即可完成分析，节省人力。
- ❖ 避免接触剧毒物质三氟化硼，保护实验人员安全。
- ❖ 自动化程度高，避免人员误差，结果重复性好。
- ❖ 利用气质联用仪可同时分析脂肪酸和反式脂肪酸，且采用 SIM 采集方式可减少色谱分离对结果的影响。

植物油脂具有很高的营养和保健功能，脂肪酸组成和含量是植物油脂的特征指标。营养学和临床医学研究表明，脂肪酸种类及含量与肿瘤、老年痴呆症和心脑血管病等很多疾病的发病呈相关性。比如，植物油脂中常见的豆蔻酸比棕榈酸有更强的致高胆固醇血症的作用，过量食用棕榈酸会使体内脂肪沉积；亚油酸能够降低胆固醇利于心血管疾病的防治等。因此，准确地检测脂肪酸组成有利于评价植物油脂的品质和营养价值，对于新品种植物油脂的开发研究也具有重要意义。

目前报道的植物油脂中脂肪酸的检测主要有气相色谱法、气相色谱-质谱法、液相色谱法及高效液相

色谱-质谱法。《食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定》（GB 5009.168 征求意见稿）中采用气相色谱仪器分析，为准确定量需考虑脂肪酸和反式脂肪酸的完全分离。而气质联用仪的 SIM 方式，即使保留时间相同，其定量离子无相互干扰时，也可准确定量。因此，需要利用 GCMS 建立一种快速、自动化检测植物油中脂肪酸含量的分析方法。

本文采用 AOC-6000 自动化样品前处理平台结合岛津 GCMS-QP2050 气质联用仪，建立了植物油中脂肪酸及反式脂肪酸含量同时分析的自动化方法，该方法操作简单、自动化程度高，可为植物油及食品中脂肪酸快速监测提供借鉴。

■ 实验部分

1.1 仪器

AOC-6000 自动化样品前处理平台

GCMS-QP2050 气相色谱质谱联用仪

1.2 分析条件

色 谱 柱 : SK-FAME, 100 m×0.25 mm×0.20 μm

柱 温 条 件 : 100℃ (4 min)_ 3℃ /min_ 250℃ (2 min)

进 样 口 温 度 : 250℃

离子化方式 : EI

载 气 控 制 模 式 : 恒线速度

离子源温度 : 230℃

线 速 度 : 30 cm/sec

接 口 温 度 : 280℃

进 样 方 式 : 分流进样 (5:1)

采 集 方 式 : SIM, 化合物信息见表 1

表 1 37 种脂肪酸甲酯及 6 种反式脂肪酸甲酯的化合物信息

序号	脂肪酸甲酯	简称	保留时间 (min)	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
1	丁酸甲酯	C4:0	6.520	87	74
2	己酸甲酯	C6:0	7.664	99	87
3	辛酸甲酯	C8:0	9.898	127	115
4	癸酸甲酯	C10:0	13.530	155	143
5	十一碳酸甲酯	C11:0	15.760	169	157
6	十二碳酸甲酯	C12:0	18.135	214.2	183
7	十三碳酸甲酯	C13:0	20.557	228.2	197
8	十四碳酸甲酯	C14:0	22.966	242.2	199
9	顺-9-十四碳一烯酸甲酯	C14:1	24.838	240.2	208
10	十五碳酸甲酯	C15:0	25.320	256.2	213
11	顺-10-十五碳一烯酸甲酯	C15:1	27.145	222	180
12	十六碳酸甲酯	C16:0	27.602	270.3	227
13	反-9-十六碳一烯酸甲酯	C16:1T	28.535	268.2	236
14	顺-9-十六碳一烯酸甲酯	C16:1	29.052	268.2	236
15	十七碳酸甲酯	C17:0	29.802	284.3	241
16	顺-10-十七碳一烯酸甲酯	C17:1	31.200	282.3	250
17	十八碳酸甲酯	C18:0	31.922	298.3	255
18	反-6-十八碳一烯酸甲酯	C18:1n6t	32.575	264	222
19	反-9-十八碳一烯酸甲酯	C18:1n9t	32.660	296.3	264
20	反-11-十八碳一烯酸甲酯	C18:1n11t	32.783	296.3	264
21	顺-9-十八碳一烯酸甲酯	C18:1n9c	33.078	296.3	264
22	反,反-9,12-十八碳二烯酸甲酯	C18:2n6t	33.936	294.3	262
23	顺,顺-9,12-十八碳二烯酸甲酯	C18:2n6c	34.938	294.3	262

24	二十碳酸甲酯	C20:0	35.922	326.3	283
25	顺, 顺, 顺 -6,9,12- 十八碳三烯酸甲酯	C18:3n6	36.320	292.2	194
26	反 -11- 二十碳一烯酸甲酯	C20:1T	36.583	292	250
27	顺 -11- 二十碳一烯酸甲酯	C20:1	36.973	292	250
28	顺, 顺, 顺 -9,12,15- 十八碳三烯酸甲酯	C18:3n3	37.077	292.2	236
29	反, 顺 -10,12- 十八碳二烯酸甲酯	C18:2n6t	37.613	294.3	262
30	二十一碳酸甲酯	C21:0	37.812	340.3	297
31	顺, 顺 -11,14- 二十碳二烯酸甲酯	C20:2	38.697	322.3	290
32	二十二碳酸甲酯	C22:0	39.645	354.3	311
33	顺, 顺, 顺 -8,11,14- 二十碳三烯酸甲酯	C20:3n6	39.973	320.3	222
34	反 -13- 二十二碳一烯酸甲酯	C22:1T	40.249	320	278
35	顺 -13- 二十二碳一烯酸甲酯	C22:1	40.609	320	278
36	顺 11,14,17- 二十碳三烯酸甲酯	C20:3n3	40.666	264	320.3
37	顺 -5,8,11,14- 二十碳四烯酸甲酯	C20:4n6	40.932	203	175
38	二十三碳酸甲酯	C23:0	41.411	368.4	325
39	顺 13,16- 二十二碳二烯酸甲酯	C22:2	42.194	350.3	318
40	顺 -5,8,11,14,17- 二十碳五烯酸甲酯	C20:5n3	42.988	201	175
41	二十四碳酸甲酯	C24:0	43.130	382.4	339
42	顺 -15- 二十四碳一烯酸甲酯	C24:1	44.015	380.4	306
43	顺 -4,7,10,13,16,19- 二十二碳六烯酸甲酯	C22:6n3	47.191	173	159

1.3 样品前处理

1.3.1 AOC-6000 自动化样品前处理平台结构

AOC-6000 自动样品前处理平台由混匀模块、自动稀释模块、样品托盘支架及样品针工具模块组成。混匀模块设有可调转速 1~2000 rpm/min，所设的自动振荡装置可对 2mL、10mL、20mL、40mL 样品瓶进行自动化涡旋混合；自动稀释模块配置自动加液装置，设有 5 个 1000mL 的溶剂瓶位，可调流速范围为 0.1~500 $\mu\text{L}/\text{s}$ ，可用于添加不同的提取溶剂。样品托盘支架模块，可提供 162 位 2 毫升样品瓶，60 位 10/20 毫升顶空样品瓶。样品针工具模块，可实现在 AOC-6000 上样品针的自动切换：D757 Tool：支持 1~100 μL 样品针放置，可用于内标添加、气相进样等。

1.3.2 AOC-6000 自动化样品处理流程



图1 样品前处理流程

■ 结果与讨论

2.1 标准品溶液色谱图

37种脂肪酸及6种反式脂肪酸的标准溶液色谱图如图2所示，各化合物的相关信息见表1，部分化合物的质量色谱图见图3。

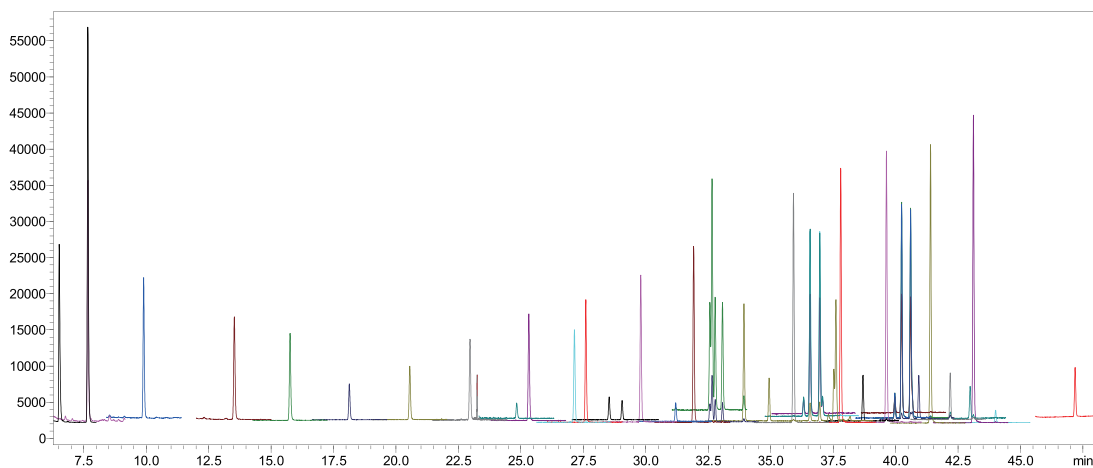


图2 37种脂肪酸及6种反式脂肪酸的TIC图(5 µg/mL)

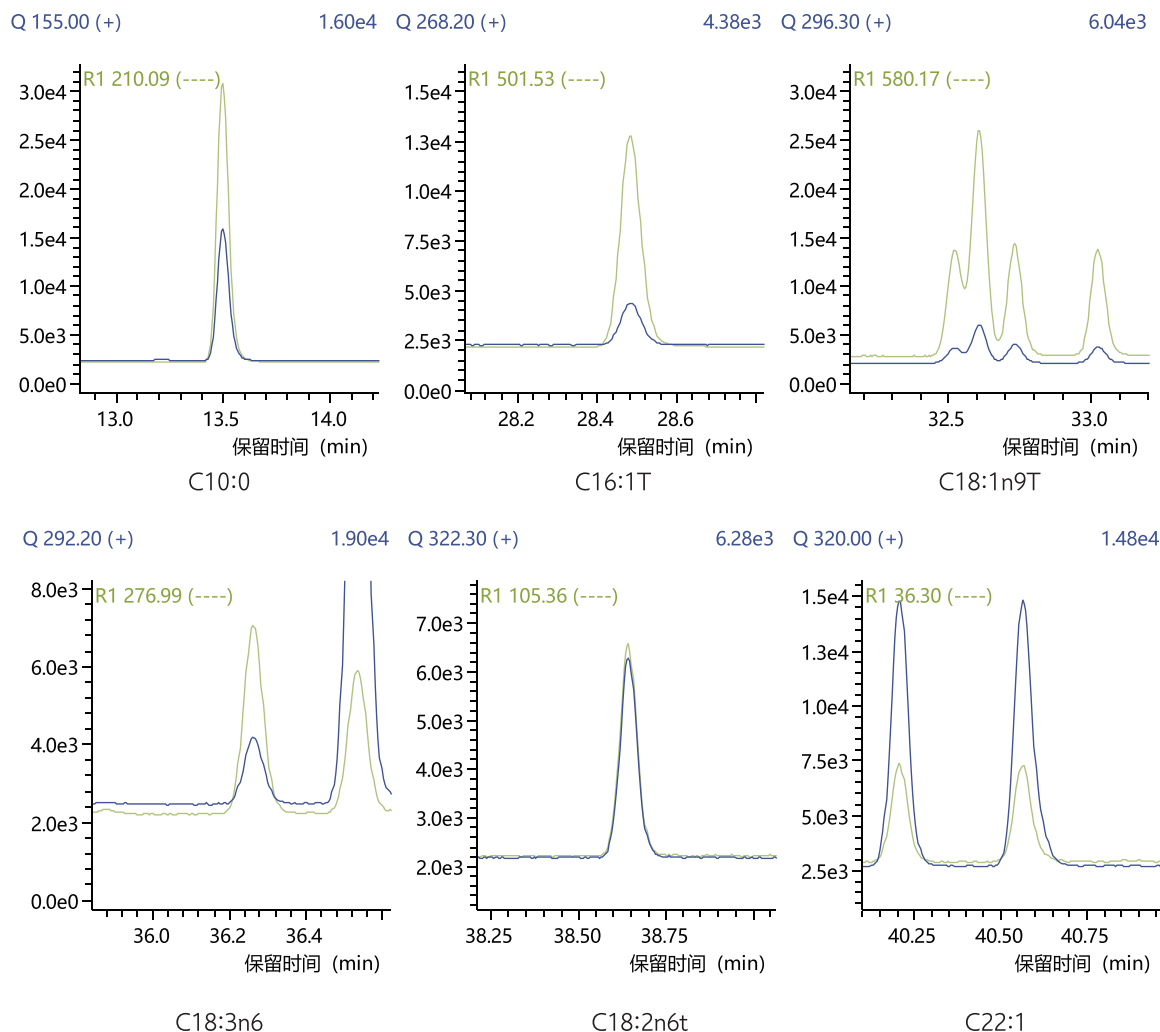


图3 部分化合物的质量色谱图 (5 µg/mL)

2.2 标准曲线和检出限

使用正庚烷配置浓度为 100 µg/mL 的储备液放于 AOC-6000 自动进样器上, 利用 AOC-6000 自动稀释功能, 使用正庚烷溶液配制 1、5、10、20、50 µg/mL 的混合标准溶液后置于 1.5mL 进样小瓶中, 振荡摇匀静置 5min 后, 液体进样到 GCMS 仪器依次进行分析。以各物质的浓度做为横坐标, 以面积做为纵坐标, 建立标准曲线, 其各物质标准曲线相关系数见表 2 所示。各物质的仪器检出限按标曲的最低浓度 (1 µg/mL) 的 3 倍 S/N 计算 (峰到峰计算方式), 其各物质检出限如表 2 所示。

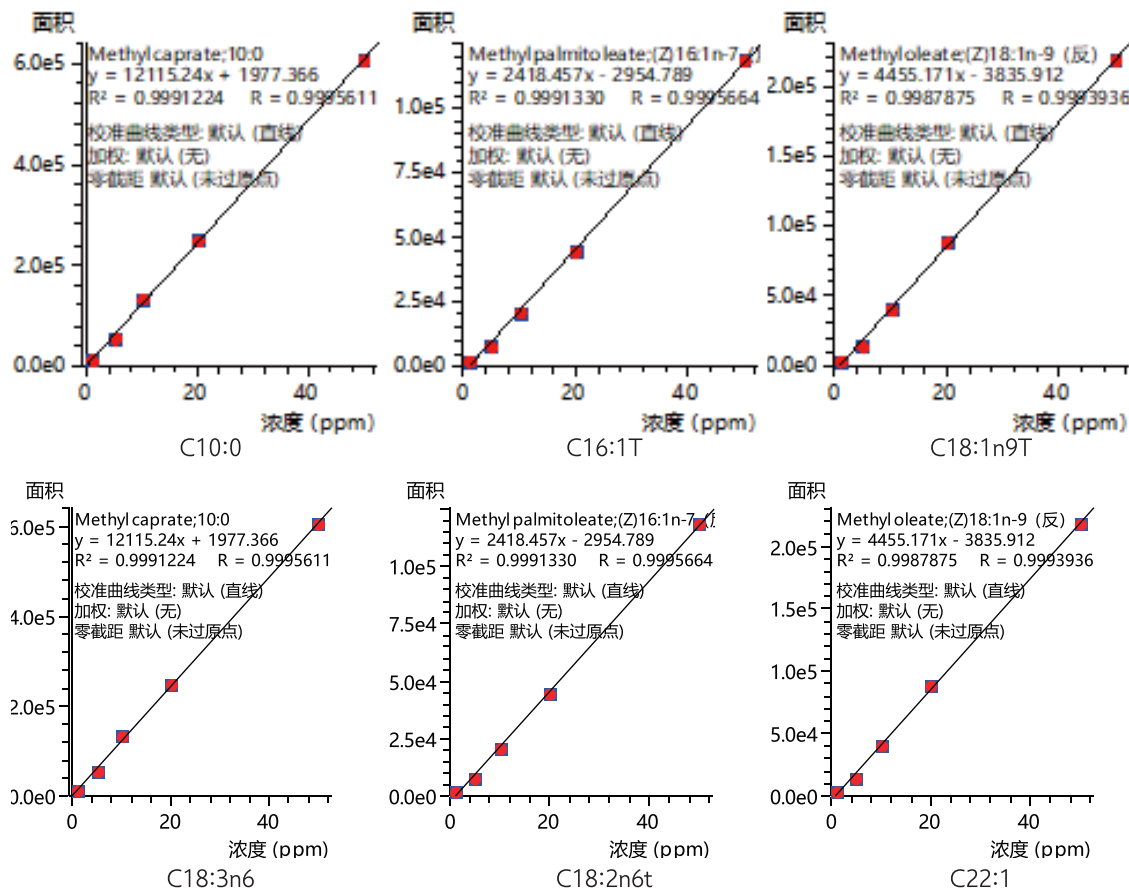


图 4 部分化合物的标准曲线

表 2 脂肪酸和反式脂肪酸化合物的标准曲线相关系数、检出限及峰面积 RSD%

No.	化合物名称	相关系数 R	检出限 (μg/mL)	RSD% (n=5)	No.	化合物名称	相关系数 R	检出限 (μg/mL)	RSD% (n=5)
1	C4:0	0.9992	0.007	4.90	23	C18:2n6c	0.9995	0.030	3.77
2	C6:0	0.9997	0.011	4.60	24	C20:0	0.9991	0.004	5.17
3	C8:0	0.9992	0.006	4.92	25	C18:3n6	0.9993	0.072	3.90
4	C10:0	0.9996	0.023	4.57	26	C20:1T	0.9993	0.038	3.87
5	C11:0	0.9995	0.014	5.88	27	C20:1	0.9996	0.034	3.37
6	C12:0	0.9994	0.041	4.40	28	C18:3n3	0.9996	0.072	4.79
7	C13:0	0.9996	0.030	4.15	29	C18:2n6t	0.9993	0.011	3.76
8	C14:0	0.9993	0.018	4.14	30	C21:0	0.999	0.004	5.27
9	C14:1	0.9995	0.180	4.24	31	C20:2	0.9991	0.046	4.66
10	C15:0	0.9996	0.001	4.43	32	C22:0	0.9994	0.002	4.26
11	C15:1	0.9997	0.014	4.53	33	C20:3n6	0.9994	0.221	3.83
12	C16:0	0.9995	0.009	2.32	34	C22:1T	0.9997	0.065	3.49
13	C16:1T	0.9996	0.088	3.80	35	C22:1	0.9996	0.038	5.07

14	C16:1	0.9998	0.112	4.01	36	C20:3n3	0.9997	0.213	3.54
15	C17:0	0.9994	0.004	3.94	37	C20:4n6	0.9997	0.097	5.30
16	C17:1	0.9993	0.111	4.46	38	C23:0	0.9997	0.002	4.60
17	C18:0	0.9995	0.007	4.09	39	C22:2	0.9995	0.039	5.36
18	C18:1n6t	0.9995	0.010	1.90	40	C20:5n3	0.9996	0.061	5.31
19	C18:1n9t	0.9994	0.009	3.12	41	C24:0	0.9993	0.002	4.11
20	C18:1n11t	0.999	0.057	4.36	42	C24:1	0.9994	0.069	4.54
21	C18:1n9c	0.9994	0.139	4.66	43	C22:6n3	0.9996	0.027	4.26
22	C18:2n6t	0.9993	0.010	4.05					

2.3 重复性测试

利用自动进样器自动配置的浓度为 10 µg/mL 的混合标准溶液 5 次，并进 GCMS 分析，以考察仪器的重复性，各化合物峰面积的重复性结果见表 2。

2.4 准确性及精密度测试

利用有证标准质控油样进行方法准确性验证，称取 0.1g 左右油样各 6 份，按照 1.3.2 前处理流程进行自动化处理，并按照外标法进行定量分析，结果与有证物质的结果对比见表 3 所示。从表 3 可以看出，其结果在质控特征值区间内，表明方法的准确度很高；同时其六次独立测定的 RSD% 小于 6%，表明自动化样品前处理受人为因素干扰较小，其重复性很好。

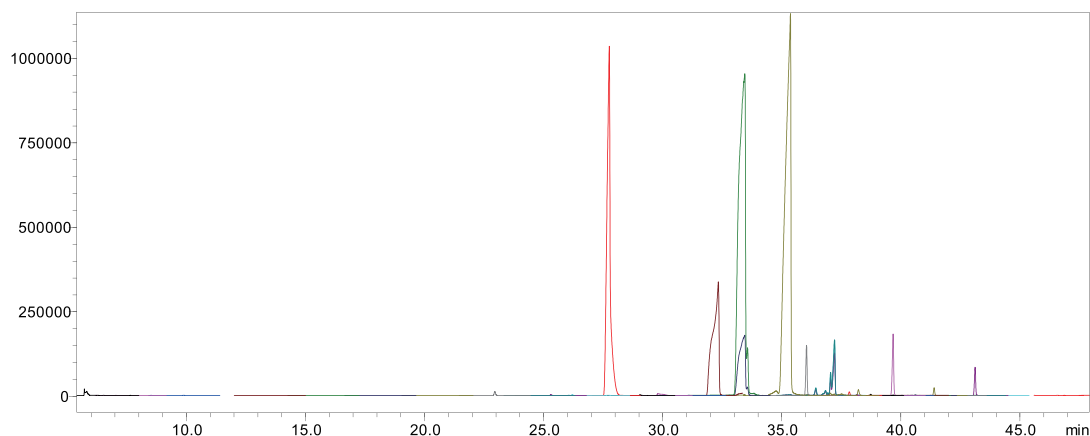


图 5 有证质控样 TIC 图

表3 准确度及精密度测定结果统计表 (n=6)

序号	No.	化合物名称	测定值 (μg/g)	RSD (%)	百分比含量 (%)	含量总计 (%)	特征值区间 (%)
饱和脂肪酸	1	C4:0	21.92	4.67	0.002	15.779	14.81~16.37
	2	C6:0	42.74	3.84	0.004		
	3	C8:0	21.23	4.14	0.002		
	4	C14:0	593.41	2.95	0.059		
	5	C15:0	125.14	5.23	0.013		
	6	C16:0	107460	5.82	10.675		
	7	C17:0	649.49	5.69	0.065		
	8	C18:0	43627.75	3.41	4.363		
	9	C20:0	2161.05	5.43	0.216		
	10	C21:0	211.98	5.31	0.021		
	11	C22:0	2340.73	5.87	0.234		
	12	C23:0	331.27	4.98	0.033		
	13	C24:0	920.92	5.18	0.092		
单不饱和脂肪酸	14	C16:1	497.11	5.96	0.050	22.559	21.93~23.85
	15	C17:1	177.76	5.87	0.017		
	16	C18:1n9c*	223716	4.17	22.372		
	17	C20:1	1199.38	5.26	0.120		
多不饱和脂肪酸	18	C18:2n6c*	562360	2.56	56.236	61.699	59.83~62.95
	19	C18:3n6	4406.75	3.48	0.441		
	20	C18:3n3	49568.45	2.65	4.957		
	21	C18:2n6t	332.38	5.56	0.033		
	22	C20:2	320.57	4.15	0.032		
	23						

2.5 实际样品测试

称取实际油样（菜籽油）0.1g 左右，按照 1.3.2 的前处理方式进行处理后，上机分析，其色谱图见图 6 所示，测定结果见表 4 所示，并与 GB/T 1536-2021《菜籽油》标准中脂肪酸组成进行对比，其结果满足标准要求，表明测试样品合格。

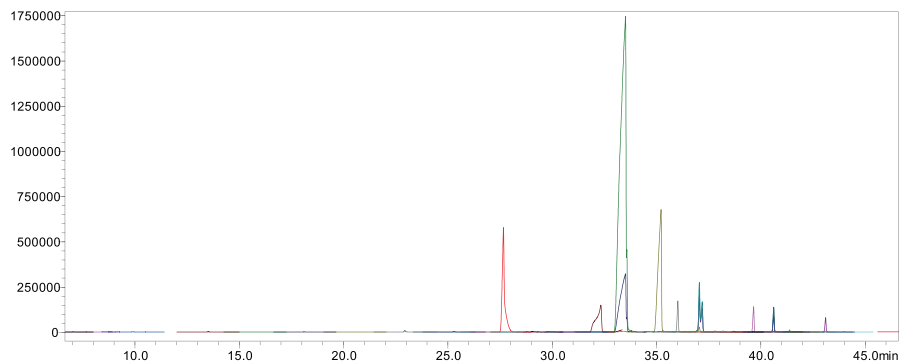


图6 菜籽油样 TIC 图

表 3 实际油样测定过结果

No.	化合物名称	测定值 ($\mu\text{g/g}$)	含量 (%)	标准要求 (%)
1	C4:0	21.875	0.002	-
2	C8:0	42.775	0.004	-
3	C10:0	50.095	0.005	-
4	C12:0	83.180	0.008	-
5	C14:0	424.846	0.042	-
6	C15:0	141.176	0.014	-
7	C16:0	4295.298	4.295	2.5~7.0
8	C16:1	1044.174	0.104	N.D~0.6
9	C17:0	355.107	0.036	N.D~0.3
10	C17:1	389.113	0.039	N.D~0.3
11	C18:0	13684.299	1.368	-
12	C18:1n9c	54876.256	54.88	51.0~70.0
13	C18:2n6c	201706.707	20.171	15.0~30.0
14	C20:0	3949.925	0.395	0.2~1.2
15	C18:3n6	946.241	0.009	-
16	C20:1	6922.653	0.692	0.1~4.3
17	C18:3n3	62950.322	6.295	5.0~14.0
18	C18:2n6T	212.362	0.021	-
19	C21:0	152.039	0.015	-
20	C20:2	400.347	0.040	N.D~0.1
21	C22:0	2078.751	0.208	N.D~0.6
22	C22:1	2655.322	0.266	N.D~3.0
23	C20:3n3	1120.302	0.112	-
24	C22:2	101.259	0.010	N.D~0.6
25	C23:0	214.631	0.021	-
26	C24:0	1058.558	0.106	N.D~0.3
27	C24:1	711.483	0.071	N.D~0.4

注：- 表示标准未要求

■ 结论

本文使用岛津 AOC-6000 自动化样品前处理平台结合岛津 GCMS-QP2050 气质联用仪，建立了植物油中 37 种脂肪酸及 6 种反式脂肪酸含量的同时定量方法。利用自动化样品前处理平台，植物油仅需称量后即可自动完成皂化、甲酯化等前处理过程，并直接上 GCMS 仪器分析，利用外标法进行定量。分析结果表明：37 种脂肪酸及 6 种反式脂肪酸在 1~50 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内，其相关系数 R 均大于 0.999，线性关系良好；同时按照 3 S/N（峰到峰计算方式）计算其最低检出限在 0.001~0.223 $\mu\text{g/mL}$ ；10 $\mu\text{g/mL}$ 浓度标样重复进样 5 次，其峰面积的 RSD% 小于 6%；选用有证植物油质控标物进行了脂肪酸准确度及精密度验证实验，结果满足标准要求；同时对前处理进行了重复性实验（ $n=6$ ），测定结果的相对标准偏差（RSD%）小于 5.96%。结果表明该方法操作简单、稳定性好，准确度高，可适用于植物油及食品中脂肪酸含量的自动化分析。

岛津应用云

